

УДК 616.155.16+632.151

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.42536

## ВПЛИВ ХЛОРПІРИФОСУ НА ДЕЯКІ ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ І ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЕМОГЛОБІНУ КРОВІ ЩУРІВ

© В. П. Росаловський

*Досліджено вплив хлорпірифосу на насичення гемоглобіну киснем, співвідношення його лігандних форм, активність каталази та супероксиддисмутази у гемолізатах еритроцитів периферичної крові щурів за умов введення щурам препарату хлорпірифосу впродовж однієї години. Зафіксовано зниження парціального тиску Оксигену, зростання вмісту метгемоглобіну та не лінійну залежність змін каталазної і супероксиддисмутази активностей*

**Ключові слова:** хлорпірифос, щури, еритроцити, гемоглобін, каталаза, супероксиддисмутаза

*We studied how chlorpyrifos affects the dynamics of hemoglobin oxygen saturation, the ratio of ligand hemoglobin forms, catalase and superoxide dismutase activity in hemolyzed erythrocytes of peripheral rat blood during an hour after exposure. We found a significant decrease in hemoglobin affinity to oxygen and increased methemoglobin at 15 min after chlorpyrifos exposure*

**Keywords:** chlorpyrifos, rats, red blood cells, hemoglobin, catalase, superoxide dismutase

### 1. Вступ

Відомо, що фосфорорганічні сполуки (ФОС), потрапляючи в організм, першочергово інгібують холінестеразні ензими, спричиняючи тим самим порушення синаптичної передачі сигналів [1]. Особливої уваги заслуговує те, що токсична дія ФОС характеризується багатовекторною напрямленістю: дією на дихальну, ендокринну, імунну, нервову системи канцерогенним або мутагенним ефектом [2–5]. Одним з найпоширеніших представників ФОС є хлорпірифос (ХПФ) ( $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ ) – високоефективний контактний інсектицид широкого спектру дії. Відомо, що ХПФ за умов введення в організм, крім інгібування холінестеразної активності, також призводить до активації процесів генерації активних форм Оксигену (АФО) у периферичній крові, спричиняючи імунно-, гепато- і гематотоксичні ефекти, розвиток синдрому ліпідної пероксидації, який включає в себе такі патологічні компоненти, як пошкодження мембранних ліпідів, порушення процесів клітинного поділу та фагоцитозу і зміни у структурно-функціональній організації мембран [6]. Надмірна генерація АФО може спричиняти порушення антиоксидантно-прооксидантного балансу та зміни активностей ензимів, які беруть участь у процесах інактивації вільних радикалів і пероксидів ліпідів. Такими ензимами в організмі є каталаза (КАТ) та супероксиддисмутаза (СОД). Вільнорадикальне окиснення за багатьох патологічних станів є суттєвою складовою механізмів реакції організму на токсичну дію різноманітних ксенобіотиків, включаючи ФОС і ХПФ зокрема [6–8].

Оскільки АФО та ензими антиоксидантної системи впливають на процеси оксигенації гемоглобіну, то дослідження впливу ХПФ на активність СОД і КАТ є важливим для характеристики функціональних властивостей еритроцитів, з якими пов'язане постачання органів і тканин киснем як у нормі, так і за дії на організм токсичних сполук різної природи [12].

### 2. Літературний огляд

Варто зазначити, що периферична кров є тією системою, на якій позначаються наслідки впливу тих чи інших чинників довкілля, фармакологічних препаратів, пестицидів тощо. У цьому плані особливої уваги заслуговують дослідження клітин крові. Безпосередньо з накопиченням АФО у тканинах пов'язані біохімічні процеси, які відбуваються в еритроцитах. Еритроцити як об'єкт дослідження, цікаві тим, що завдяки вмісту гемоглобіну відіграють вирішальну роль у транспорті  $O_2$ ,  $CO_2$ , а також продуктів перетворення  $NO$  та інших метаболітів гемоглобіну, окрім здійснення транспортної функції, їм належить важлива роль у забезпеченні нормального перебігу окисно-відновних реакцій у тканинах [9–11]. Однак інформація, яка стосується дослідження спорідненості гемоглобіну до кисню за дії ХПФ, у літературі відсутня.

### 3. Постановка проблеми

Зважаючи на вищенаведену інформацію, метою даного дослідження було вивчити вплив ХПФ на спорідненість гемоглобіну до кисню, співвідношення його лігандних форм, каталазну та супероксиддисмутази активності впродовж години після введення щурам цієї сполуки.

### 4. Матеріали та методи дослідження

Дослідження були проведені на 40 статевозрілих самцях білих лабораторних щурів лінії Вістар масою тіла 200–220 г, яких утримували у стандартних умовах віварію з дотриманням 12-годинного режиму освітлення темнота/світло, необмеженим доступом до питної води та корму. Тваринам згодували стандартний комбікорм для лабораторних щурів. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції “Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей” (Страсбург, 1986 р.) і “Загальних етичних принципів експериментів на

тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Було сформовано вісім груп тварин – чотири контрольні (К1, К2, К3, К4) і чотири дослідні (Д1, Д2, Д3, Д4), по 5 щурів у кожній. Розподіл тварин на групи проводили за принципом аналогів з урахуванням їх віку і маси. Тваринам дослідних груп одноразово внутрішньовенно за допомогою зонду вводили соняшниково-олійний розчин хлорпірифосу у дозі 50 мг/кг. Тваринам контрольних груп вводили аналогічний об'єм чистої соняшникової олії. Декапітацію щурів здійснювали за анестезії ефіром. Відбір периферичної крові у тварин проводили через 15 хв. (К1, Д1), 30 хв. (К2, Д2), 45 хв. (К3, Д3) та 60 хв. (К4, Д4) після введення в їх організм токсиканту.

Спорідненість гемоглобіну до кисню визначали спектрофотометричним методом у модифікації Іванова [13], співвідношення лігандних форм гемоглобіну визначали за методикою Білого і співавт.[14].

Для проведення біохімічних досліджень зразки гепаринізованої крові центрифугували при 1006 g впродовж 15 хв. Після відділення плазми еритроцити тричі промивали 0,150 М розчином NaCl. Гемолізати отримували шляхом триразового заморожування-відтаювання водних суспензій еритроцитів з наступним їх центрифугуванням при 4,7 тис. g протягом 15 хв.

Супероксиддисмутазу (СОД) (КФ 1.1.15.1.) активність визначали за модифікованим методом Дубініної та ін. як описано у [15], який ґрунтується на відновленні супероксидним аніоном, що утворюється у реакції між феназинметасульфатом і NADPH, нітросинього тетразолію до нітроформазону. Активність СОД виражали в умовних одиницях на 1 мг протеїну тканини.

Каталазу (КФ 1.11.1.6) активність визначали за методом Корольок М. А. у модифікації [16]. Реакцію запускали додаванням 2 мл Гідроген пероксиду до 0,1 мл гомогенату тканини. Активність ензиму виражали в нмоль  $H_2O_2$ /хв. на 1 мг протеїну гомогенату тканини, використовуючи коефіцієнт молярного поглинання, який дорівнює  $22,2 \times 10^3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

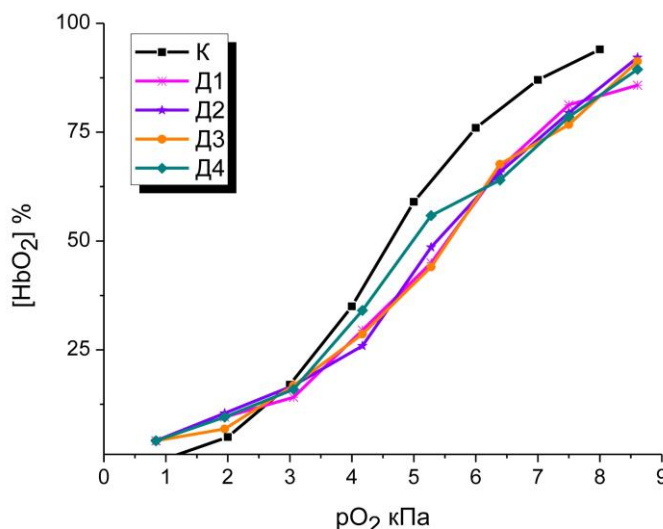
Концентрацію білка визначали за методом Лоурі [17].

Експериментальні дані обробляли з використанням програми OriginPro 8. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами використовували t критерій Стюдента. В усіх випадках достовірними вважали відмінності за умови значення ймовірності P, менше 5 % ( $P < 0,05$ ).

## 5. Результати досліджень та обговорення

З огляду на важливість встановлення ступеня забезпечення Оксигеном органів і тканин за інтоксикації ХПФ, були проведені порівняльні дослідження кінетики насичення киснем гемоглобіну щурів мето-

дом побудови кривих оксигенації. Встановлено, що через одну годину після введення ХПФ в організм у всіх дослідних групах спорідненість гемоглобіну до кисню знижується (рис. 1).



Показники	Р <sub>50</sub> кПа М±m	Р <sub>75</sub> кПа М±m	Р <sub>90</sub> кПа М±m
Групи			
К	4,6±0,24	6,01±0,72	7,47±0,38
Д1	5,25±0,23*	6,37±0,51	8,0±0,65
Д2	4,28±0,36	5,1±0,53	7,54±0,82
Д3	5,06±0,32	6,53±0,84	7,52±0,97
Д4	4,14±0,55	6,12±0,53	7,78±0,74

Рис. 1. Типові криві і показники значень парціального тиску Оксигену (рО<sub>2</sub>, кПа) за різних значень рО<sub>2</sub> впродовж 1 години після інтоксикації хлорпірифосом (М±m): К – контроль, Д1 – через 15 хв., Д2 – через 30 хв., Д3 – через 45 хв., Д4 – через 60 хв після введення ХПФ; \*— $p < 0,05$ , У цій та наступних таблицях різниця достовірна порівняно із контрольною групою

Значення Р<sub>50</sub> показує, що насичення гемоглобіну інтоксикованих тварин киснем незначно відрізнялась впродовж експерименту, однак вірогідне зростання цього параметра (у 1,14 раза), порівняно до контролю, спостерігали лише у групі Д1. Показники Р<sub>75</sub>, Р<sub>90</sub> всіх дослідних груп мали незначні міжгрупові відмінності, проте, вони не були статистично вірогідні.

Пришвидшена віддача кисню і уповільнене насичення гемоглобіну призводять до порушення співвідношення між фракціями окси- та дезоксигемоглобіну. Це порушення може бути причиною виникнення гіпоксичного ефекту. Іншим істотним фактором порушення спорідненості гемоглобіну до кисню може бути зміна співвідношення лігандних форм гемоглобіну (табл. 1). Нами показано статистично вірогідну зміну співвідношення лігандних форм гемоглобіну. Так, через 15 хвилин після введення ХПФ вміст MetHb зростав у 1,6 раза, порівняно з контролем, а вміст HbCO через 30 хв. – у 1,76 раза, відповідно. Оскільки ХПФ є індуктором оксидативного стресу, зростання вмісту MetHb може бути пов'язане з посиленню генерацією супероксид

аніон-радикала  $O_2^-$ . Утворений супероксид аніон-радикал може призводити до модифікації гідрофобного оточення гемму, наслідком чого є зміна конформації молекули гемоглобіну. Конформаційні порушення в оточенні гемму, зміна його гідрофобності, поява аніонів у цьому просторі призводить до відщеплення Оксигену у формі супероксидного аніона і переходу  $F^{2+} \rightarrow F^{3+}$ . Процес окиснення заліза гемму гемоглобіну при швидшується при надходженні в організм гемолітичних отрут, ряду лікарських препаратів тощо [18]. Варто також зазначити, що збільшення вмісту метгемоглобіну може відбуватись внаслідок зростання пулу

цитоплазматичної та мембранозв'язуючої метгемоглобінредуктази [9]. Зростання вмісту  $HbCO$  є наслідком накопичення ендogenous CO, через що змінюється спорідненість гемоглобіну до Оксигену. Таке підвищення рівня  $HbCO$  може мати компенсаторно-приспосувальний характер.

Оскільки ХПФ індукує утворення активних форм Оксигену (АФО), які здатні впливати на ензиматичні і неензиматичні компоненти системи антиоксидантного захисту [19, 20], було проведено визначення активностей СОД і КАТ у гемолізатах еритроцитів (табл. 2).

Таблиця 1

Співвідношення лігандних форм гемоглобіну у крові щурів впродовж 1 години після інтоксикації хлорпірифосом ( $M \pm m$ )

Групи тварин	Лігандні форми, гемоглобіну %				
	RHb	HbO <sub>2</sub>	HbCO	SHb	MetHb
К	0,10±0,06	94,17±1,73	2,47±0,72	1,35±0,54	1,91±0,30
Д1	0,22±0,012	93,78±1,57	1,09±0,69	1,73±0,71	3,18±0,42*
Д2	0,08±0,04	90,14±1,42	4,37±0,83*	3,93±1,05	1,48±0,69
Д3	0,11±0,05	91,11±1,46	3,69±0,62	3,86±0,76	1,23±0,74
Д4	0,15±0,07	92,66±1,31	3,89±0,93	2,24±0,78	1,02±0,81

Таблиця 2

Активність каталази та супероксиддисмутази у гемолізатах еритроцитів впродовж 1 години після інтоксикації хлорпірифосом ( $M \pm m$ )

Групи тварин	Каталаза (КАТ) ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / хв. х мг прот.	Супероксиддисмутаза (СОД) ум. од./мг прот.
К1	11,52±0,16	0,11±0,01
Д1	10,54±0,36*	0,04±0,02*
К2	10,93±0,13	0,14±0,03
Д2	9,99±0,48*	0,17±0,04
К3	11,40±0,20	0,10±0,01
Д3	10,92±0,11*	0,06±0,02
К4	11,12±0,12	0,13±0,01
Д4	11,56±0,27	0,20±0,01*

КАТ та СОД відіграють ключову роль у забезпеченні функціонування системи антиоксидантного захисту. СОД здійснює дисмутацію супероксиду в кисень і гідроген пероксид, останній служить субстратом для КАТ. У ході досліджень виявлено, що активність СОД вірогідно знижувалась у групі Д1 та вірогідно зростала у групі Д4. Інгибування активності СОД під впливом хлорпірифосу можна пояснити надмірним збільшенням у клітинах вільних радикалів (синглетного Оксигену, пероксиду Гідрогену, гідроксильних радикалів).

КАТ каталізує реакцію знешкодження пероксиду Гідрогену, що утворюється в результаті реакції дисмутації супероксидного радикала. Майже у всіх клітинах і органах проявляється КАТ активність. Як видно з наших результатів (табл. 2), у крові щурів, інтоксикованих хлорпірифосом, КАТ активність була нижчою, ніж у тварин контрольної групи. На 15, 30, 45 хв. досліді (Д1, Д2, Д3) активність КАТ вірогідно знижувалася у порівнянні до контролю і була найменшою на 30 хв. експерименту (Д2).

Можливо, зафіксовані у групі Д1 одночасні зміни як КАТ, так і СОД пов'язані з тим, що на

ранньому етапі інтоксикації супероксид аніон інгібує активність КАТ, а Гідроген пероксид – активність СОД [12–18]. Для СОД і КАТ властиве так зване явище перехресної регуляції активності. Вірогідне зростання активності СОД ( $p < 0,05$ ), а також тенденція до збільшення активності КАТ у групі Д4, можуть бути пов'язані з нормалізацією прооксидантно-антиоксидантної рівноваги та активізацією утилізаційних процесів АФО через 60 хв. після введення тваринам ХПФ.

## 6. Висновки

Встановлено, що за інтоксикації щурів ХПФ у дозі 50 мг/кг впродовж 1 години відбувається зростання показника парціального тиску кисню  $P_{50}$  у групі Д1 (15 хв.) у 1,14 раза, порівняно з контролем.

Зафіксовано зміну співвідношення лігандних форм гемоглобіну за інтоксикації ХПФ. Встановлено вірогідне зростання вмісту MetHb у Д1 у 1,66 раза та  $HbCO$  у Д2 у 1,76 раза порівняно до контрольних значень.

Спостерігали нелінійну залежність зміни активності СОД і КАТ. Активність КАТ у групах Д1,

Д2 та Д3 вірогідно знижувалась порівняно з групами інтактних тварин. Активність СОД вірогідно знижувалась у групі Д1, проте у групі Д4 зафіксоване зростання активності СОД у 1,56 раза. Виявлені зміни є одним із наслідків гострої інтоксикації ХПФ і можуть бути використані як один із додаткових маркерів інтоксикації організму цією сполукою.

### Література

1. Salyha, Y. Biological effects assessment of chlorpyrifos and some aspects of its neurotoxicity [Text] / Y. Salyha // Visnyk of Lviv University. – Biology series – 2010. – Vol. 54. – P. 3–14.
2. Влізло, В. В. Проблеми біологічної безпеки застосування пестицидів в Україні [Текст] / В. В. Влізло, Ю. Т. Салига // Вісник аграрної науки. – 2012. – № 1. – С. 24–27.
3. Jin, Y. The toxicity of chlorpyrifos on the early life stage of zebrafish: A survey on the endpoints at development, locomotor behavior, oxidative stress and immunotoxicity [Text] / Y. Jin, Z. Liu, T. Peng, Z. Fu // Fish & Shellfish Immunology. – 2015. – Vol. 43, Issue 2. – P. 405–414. doi: 10.1016/j.fsi.2015.01.010
4. Rosalovsky, V. New biochemical and physiological aspects of chlorpyrifos neurotoxicity [Text] / V. Rosalovsky, Y. Salyha // Toxicology Letters. – 2013. – Vol. 221. – P. 200. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.05.468
5. Whitney K.D. Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos: cellular mechanisms [Text] / K.D. Whitney, F.J. Seidler, T.A. Slotkin // Toxicol Appl Pharmacol. – 1995. – Vol. 134, № 1. – P. 53–62.
6. Salyha, Y. Chlorpyrifos leads to oxidative stress-induced death of hippocampal cells in vitro [Text] / Y. Salyha // Neurophysiology. – 2013. – Vol. 45, Issue 3. – P. 193–199. doi: 10.1007/s11062-013-9356-7
7. Салига, Н. О. Активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту в щурів за дії L-глутамінової кислоти [Текст] / Н. О. Салига // Український біохімічний журнал. – 2013. – Т. 85, № 4. – С. 40–47.
8. Салига, Ю. Т. Показники антиоксидантної системи у головному мозку щурів інтоксикованих хлорпірифосом [Текст] / Ю. Т. Салига // Біологічні студії. – 2013. – Т. 7, № 3. – С. 85–96.
9. Дудок, К. П. Структурно-функціональний стан еритроцитів, вміст лігандних форм гемоглобіну і молекул середньої маси у крові людей хворих на шизофренію [Текст] / К. П. Дудок, І. Й. Влох, Р. О. Влох та ін. // Біологічні Студії/Studia Biologica. – 2010. – Т. 4, № 1. – С. 15–26.
10. Доценко, О. И. Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышей в условиях низкочастотной вибрации [Текст] / О. И. Доценко, В. А. Доценко, А. М. Мищенко // Физика живого. – 2010. – Т. 18, № 1. – С. 107–113.
11. Салига, Ю. Т. Деякі показники антиоксидантної системи у еритроцитах щурів за умов хронічного впливу хлорпірифосу [Текст] / Ю. Т. Салига, Н. І. Талоха, О. М. Стефанишин та ін. // Медична хімія. – 2011. – Т. 13, № 4. – С. 103–106.
12. Lukaszewicz-Hussain, A. Organophosphate insecticide chlorfenvinphos affects superoxide dismutase, catalase and malondialdehyde in rat liver [Text] / A. Lukaszewicz-Hussain // Pol. J. of Environm S. – 2001. – Vol. 10, Issue 4. – P. 279–282.
13. Иванов, Ю. Т. Модификация спектрофотометрического метода определения кислородно-диссоциационных кривых гемоглобина [Текст] / Ю. Т. Иванов // Бюлл. эксперимент. биологии и медицины. – 1975. – Т. 79, № 11. – С. 122–128.
14. Білий, О. І. Визначення вмісту гемоглобіну та його лігандних форм у цільній крові за методом аб-

сорбційної спектроскопії [Текст] / О. І. Білий, К. П. Дудок, В. М. Лук'янець. – Методичні вказівки. Львів: Вид. центр ЛДУ, 1998. – 12 с.

15. Влізло, В. В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині [Текст] / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін. – Львів: СПО-ЛОМ, 2012. – 761 р.

16. Влізло, В. В. Фізіолого-біохімічні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник [Текст] / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. А. Макар та ін. – Львів, 2004. – 399 р.

17. Lowry, O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent [Text] / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr et al // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, Issue 1. – P. 265–275.

18. Салига, Ю. Т. До вивчення деяких параметрів системи антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів у крові щурів за токсичної дії хлорпірифосу [Текст] / Ю. Т. Салига, В. П. Росаловський // Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 94–95.

19. Салигам Н. Вплив L-глутамінової кислоти на активність ензимів метаболізму глутатіону та інтенсивність пероксидних процесів у щурів [Текст] / Н. Салига, Ю. Салига // Вісн. Львів. університету. Серія біологічна. – 2013. – Т. 62. – С. 61–67.

20. Салига, Ю. Т. Глутатіонова система еритроцитів щурів інтоксикованих хлорпірифосом [Текст] / Ю. Т. Салига В. П. Росаловський, Р. О. Федяков // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 60. – С. 99–104.

### References

1. Salyha, Y. (2010). Biological effects assessment of chlorpyrifos and some aspects of its neurotoxicity. Visnyk of Lviv University. Biology series, 54, 3–14.
2. Vlizlo, V. V., Salyha, Y. T. (2012). Some problems of biological safety of application of pesticides in Ukraine. News of agrarian sciences, 1, 24–27.
3. Jin, Y., Liu, Z., Peng, T., Fu, Z. (2015). The toxicity of chlorpyrifos on the early life stage of zebrafish: A survey on the endpoints at development, locomotor behavior, oxidative stress and immunotoxicity. Fish & Shellfish Immunology, 43 (2), 405–414. doi: 10.1016/j.fsi.2015.01.010
4. Rosalovsky, V., Salyha, Y. (2013). New biochemical and physiological aspects of chlorpyrifos neurotoxicity. Toxicology Letters, 221, 200. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.05.468
5. Whitney, K. D., Seidler, F. J., Slotkin, T. A. (1995). Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos: cellular mechanisms. Toxicol Appl Pharmacol, 134 (1), 53–62. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.05.468
6. Salyha, Y. T. (2013). Chlorpyrifos Leads to Oxidative Stress-Induced Death of Hippocampal Cells in Vitro. Neurophysiology, 45 (3), 193–199. doi: 10.1007/s11062-013-9356-7
7. Salyha, N. O. (2013). Activity of the glutathione system of antioxidant defense in rats under the action of L-glutamic acid Ukr. Biochem J., 85 (4), 40–47.
8. Salyha, Y. T. (2013). Antioxidant system indices in brain of rats intoxicated by chlorpyrifos. Studia Biologica, 7 (3), 85–96
9. Dudok, K. P., Vlokh, I. J., Vlokh, R. O. (2010). Structural and functional state of the erythrocytes, ligand forms of haemoglobin and content of molecules of middle mass in blood plasma of patients with schizophrenia disorders Studia Biologica, 4 (1), 15–26.
10. Dotsenko, O. I., Dotsenko, V. A., Mishchenko, A. M. (2010). The activity of erythrocytes superoxide dismutase and catalase and some other tissues at condition of low frequency vibration. Physics of Alive, 18 (1), 107–113.
11. Salyha, Yu. T., Tolokha, N. I., Stefanyshyn, O. M. (2011). Some parameters of antioxidant system in erythrocytes

of rats under the chronic influence of chlorpyrifos. Medical i Clinical Chemistry, 13 (4), 103–106.

12. Lukaszewicz-Hussain, A. (2001). Organophosphate insecticide chlorfenvinphos affects superoxide dismutase, catalase and malondialdehyde in rat liver. Pol. J. of Environm, 10 (4), 279–282.

13. Ivanov, Y. T. (1975). Modification of spectrophotometric method for determining the curves of oxygen-hemoglobin dissociation. Bull. of experiment. Biology and medicine, 79 (11), 122–128.

14. Bilyu, O. I., Dudok, K. P., Lukyanets, V. (1998). Determination of hemoglobin and its ligand forms in whole blood by absorption spectroscopy. Lviv, 12.

15. Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., Ratycz, I. B. et al. (2012). Laboratory methods of research in biology, stockbreeding and veterinary medicine. Lviv, SPOLOM, 761.

16. Vlizlo, V. V., Fedoruk, R. S., Makar, I. A. et al. (2004). Physiological and biochemical methods of research in biology, stockbreeding and veterinary medicine. Lviv, 399.

17. Lowry, O. H. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193 (1), 265–275.

18. Salyha, Y. T., Rosalovsky, V. P. (2012). To the study of some parameters of antioxidant defense system and lipid peroxidation in blood of rats under the toxic influence of chlorpyrifos. Ukr morph. alm., 10 (3), 94–95.

19. Salyha, N., Salyha, Yu. (2013). Effect of L-glutamic acid on the activity of glutathione metabolism enzymes and intensity of peroxidation processes in rats Visn. Lviv Univ. Biol. Ser. 62, 61–67.

20. Salyha, Yu., Rosalovsky, V., Fedyakov, R. (2012). Glutathione system in erythrocytes of rats intoxicated by chlorpyrifos. Visn. Lviv Univ. Biol. Ser., 60, 99–104.

Рекомендовано до публікації д-р біол. наук, професор Малик О. Г.  
Дата надходження рукопису 23.04.2015

**Росаловський Володимир Петрович**, молодший науковий співробітник, Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, м. Львів, Україна, 79034  
E-mail: ros.volodymyr@gmail.com

УДК 633.111.1 [575.21 + 581.821.1 + 631.523.4]

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.42746

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАЗЛИЧИЙ ПО ДЛИНЕ ЗАМЫКАЮЩИХ КЛЕТОК УСТЬИЦ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ

© Н. П. Ламари, В. И. Файт

*Изучили варьирование длины замыкающих клеток устьиц у родительских сортов и наследование данного признака у гибридов  $F_1$  и  $F_2$ , полученных от скрещивания различающихся генотипов озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Результаты анализа  $F_2$  популяций свидетельствовали об участии в контроле различий по длине замыкающих клеток трех неаллельных генов*

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum* L., замыкающие клетки, наследование, генотипическая изменчивость, гибридологический анализ

*Variation in stomatal guard cell length of parental cultivars and its inheritance in  $F_1$  and  $F_2$  hybrids have been studied after crossing between contrast genotypes of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Analysis of  $F_2$  populations has shown the action of three non-allelic genes in control of stomatal guard cell length of parental cultivars*

**Keywords:** *Triticum aestivum* L., guard cells, inheritance, genotypic variability, hybridological analysis

### 1. Введение

Недостаточный адаптационный потенциал сортов к биотическим и абиотическим факторам окружающей среды лимитирует получение высоких урожаев зерна пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в различных регионах Украины, и северного Причерноморья в частности [1]. Взаимосвязь характеристик устьиц с влиянием различных факторов среды: повышенная концентрация  $\text{CO}_2$  [2], тепловой и солевой стрессы [3], засуха [4], мороз [5], световой режим [6], грибковые заболевания [7] – свидетельствует о возможности отбора генотипов с более высоким уровнем адаптивности. Настоящее исследование является попыткой проанализировать наследование длины замыкающих клеток устьиц (ЗКУ), так как информация о генетической природе является основополагающей при разработке и обосновании рациональных селекционных программ создания сортов растений с комплексом ценных признаков.

### 2. Литературный обзор

Устьица пшеницы – сложный высокоспециализированный аппарат, представленный комплексом клеток, состоящий из двух пар замыкающих и околоустьичных клеток, соответственно [8]. В трибе *Triticeae* для диплоидных видов характерна меньшая длина замыкающих клеток по сравнению с тетра- и гексаплоидными видами [9]. Более крупные размеры замыкающих клеток отмечены у яровых сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и связаны с аллелями ярового типа развития (*Vrn-A1a*), а минимальные – у наиболее холодоустойчивых озимых сортов – ассоциированы с аллелями озимого типа развития (*Vrn-A1b*) на хромосоме 5A [10]. Показано влияние хромосом 1A, 3A, 4A, 5A, 1B, 5B, 6D, 7A, 7D у различных сортов пшеницы на линейные размеры устьиц [11, 12]. Дефицит почвенной влаги не влиял на варьирование длины устьиц сорта Саратовская 29, что указывает на значительную генетическую стабильность